

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM

Versie 2006

Herziene versie

DECNR: 2011-161

Ontvangen: 21-12-2011

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag 2
10-01-2012	Nieuw

VROM/GGONR ³
02-141

LNV/CBDNR ⁴

Hoofdproject	CARIM					
Deelproject	3.					

Financieel beheerder	
----------------------	--

Budgetnummer	30983319N
--------------	-----------

Titel van het onderzoek:

Lekkende vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand

startdatum 01-01-2012

einddatum 9 01-01-2016

Duur van de proef¹⁰: 9 mnd

	Naam	Tel (+ Tel privé enkel VO, VVO en VM)	E-mailadres	Bevoegdheid ⁵	Cap. groep /afdeling
1. Verantwoordelijk onderzoeker (VO)				Art.9	
2. Vervanger VO (VVO)				Art 9	
3. Verantwoordelijk medewerker (VM) GGO ⁷				Art. 9	
4. overige uitvoerenden					
5. PI				Art.9	

Diergroep	1	2					
ctrl/exp/sham	EXP	EXP					
Diersoort	01	01					
Stam	C57Bl6	C57Bl6					
Construct / mutatie ?	LDLRko	LDLRko					
Herkomst (leverancier) *	01	01					
Aantal	40	80					
Geslacht	M	M					
Dieren immuuncompetent ?	ja	ja					
Leeftijd/gewicht	10-12 wk	10-12 wk					
Doel van de proef *	31	31					
Belang van de proef *	01	01					
Toxicologisch onderzoek *	01	01					
Bijzondere technieken *	01	01					
Anesthesie *	04	04					
Pijnbestrijding *	04	04					
Mate ongerief *	03	03					
Toestand dier einde exp*	01	01					

Verantwoording

Aanvraag dierproef DEC-UM

Titel: Lekkende vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand

1. Doel van de proef

Doel van deze proef is om aan te tonen of endotheel cel junctions een rol spelen bij de verhoogde doorlaatbaarheid van vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand.

Met verschillende interventies wordt de vasa vasorum doorlaatbaarheid gestimuleerd en geblokkeerd, waarna de permeabiliteit voor leukocyten bepaald wordt met in vivo

zoals in eerdere experimenten (DEC 2008-140 en 2008-152).

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang

Atherosclerose is de belangrijkste doodsoorzaak in de westerse samenleving. Het is een progressieve inflammatoire ziekte van de grote slagaders waarbij lipiden, cellen, en extracellulaire matrix in de vaatwand ophopen en uiteindelijk leidt tot de vorming van een atherosclerotische plaque. De progressie van een plaque kan stenose van het vat veroorzaken, echter klinische complicaties zoals hart- en herseninfarcten ontstaan meestal door het openscheuren van een plaque (plaque ruptuur) en de hierop volgende vorming van een bloedstolsel (thrombose). De influx van nieuwe leukocyten door verhoogd doorlaatbare microvaten draagt in sterke mate bij aan de progressie van de ziekte [1-2].

Als blijkt welke moleculen de verhoogde endotheel cel doorlaatbaarheid beïnvloeden, kan dit mogelijk tot de ontwikkeling van een nieuwe therapie voor de behandeling van deze ziekte kunnen leiden

3. Alternatieven

Alternatieven, zoals celkweek experimenten, kunnen noch het proces van atherosclerose, noch de nieuwe vaatvorming in atherosclerotische plaques, voldoende nabootsen. Het betreft een gecompliceerd proces is, waarbij interacties tussen verschillende celtypen, shear stress en productie van verschillende cytokines en groeifactoren een belangrijke rol spelen. Er is dus geen alternatief voorhanden, waarbij geen gebruik wordt gemaakt van proefdieren.

4. Ethische afweging

De cardiovasculaire complicaties van atherosclerose is de belangrijkste doodsoorzaak in de Westerse wereld. Wereldwijd overleden in 2008 bijna 18 miljoen personen ten gevolge van hart- en vaatziekten (www.who.int/factsheet 2010). Dit experiment kan geplaatst worden in het bredere kader van fundamenteel onderzoek naar de rol van nieuwe vaatvorming in de progressie van atherosclerose. In dat kader vinden wij dat het belang van het onderzoek opweegt tegen het ongerief van de proefdieren.

Wetenschap

5. Wetenschappelijke onderbouwing

Atherosclerose is het belangrijkste gezondheidsproblemen in de westerse wereld en de onderliggende oorzaak van hartinfarct en beroerte. Deze levensbedreigende aandoeningen zijn het gevolg van atherosclerotische plaque ruptuur, gevolgd door trombose. Trombose kan dan leiden tot arteriële occlusie. Bij de mens is plaqueruptuur geassocieerd met een toename van microvaten in de plaque en in de adventitia (aldaar vasa vasorum genoemd) (1). We hebben onlangs gemeld dat deze plaque en adventitiale microvaten verhoogd doorlaatbaar zijn voor leukocyten en rode bloed cellen. Hierdoor ontstaan plaque bloedingen, waardoor de plaque kan scheuren. Met elektronenmicroscopie toonden wij dat junctions tussen humane endotheelcellen van plaque microvaten grotendeels open waren, wat waarschijnlijk de oorzaak is van de verhoogde doorlaatbaarheid van de microvaten.

Ook de vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand van 40wk oude muizen zijn verhoogd doorlaatbaar. Recent is met behulp van _____ microscopie) aangetoond dat CD31-gelabelde

vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand verhoogd doorlaatbaar zijn voor gelabelde nanodeeltjes (dextran) en leukocyten in vergelijking met microvaten in gezond weefsel / [ongepubliceerde data DEC 2008-152].

Verhoogde doorlaatbaarheid kan veroorzaakt worden door 1. verhoogde adhesie van leukocyten, 2. niet-functionele endotheel cel junctions 3. Ontbreken van stabiliserende laag van spiercellen rond de junctions.

Blokkering van adhesiemoleculen (P-selectine) in de atherosclerotische vaatwand leidde tot verminderde leukocyte adhesie op vasa vasorum, maar of de werkelijke lekkage door het endotheel ook verminderde door deze interventie is niet bestudeerd. [4]

Het is onbekend of endotheel junctions normaal functioneren in de vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand van de muis. Een zeer belangrijk molecuul in endotheel junctions is VE-cadherine. VE-cadherine is bepalend voor de endotheel barrière functie, maar heeft tegelijkertijd geen effect op leukocyte adhesie aan het endotheel. Interventies met VE-cadherine zullen dus specifiek informatie over de endotheel doorlaatbaarheid verschaffen. Een antilichaam dat VE-cadherine dimerisatie blokkeert, veroorzaakt verhoogde doorlaatbaarheid [5]. Anderzijds kan een stabiliserend tandem-peptide dat VE-cadherine subunits samenbindt, de doorlaatbaarheid verminderen.[6]

Er zullen twee studies uitgevoerd worden:

1. Vroegere detectie en doorlaatbaarheid vasa vasorum van atherosclerotische muizen
2. Stimulatie en stabilisering van VE-cadherine en permeabiliteit vasa vasorum in normale en atherosclerotische muizen

1. Vroegere detectie en doorlaatbaarheid vasa vasorum van atherosclerotische muizen

Op dit moment worden voor de studies 40 wk oude muizen gebruikt. Dit is een tijdrovend en kostbaar proces. In eerdere studies kon in 16wk oude apoE-/- muizen zonder dieet geen vasa vasorum gedetecteerd worden met

Uit een tijdreeks met LDLR-/- muizen op dieet blijkt dat vasa vasorum detectie met immunohistochemie en elektronenmicroscopie mogelijk is vanaf 12 weken (Dec 2010-018). We zullen de vasa vasorum detectie in LDLR-ko muizen met testen in muizen die gedurende 12, 16, 20, 24, 30 of 40 weken dieet krijgen. De kortste dieet-periode waar detectie mogelijk is, zal gebruikt worden.

2 Stimulatie en stabilisering van VE-cadherine

Adhesie en permeabiliteit van CD31-gelabelde vasa vasorum kan bepaald worden door kwantificatie van MPLSM metingen na injectie van gelabelde nanodeeltjes en leukocyten.

Door het toepassen van interventies om VE-cadherine te blokkeren of te stimuleren, kan bestudeerd worden of endotheel junctions normaal functioneren in muis vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand. Als VE-cadherine blokkering de basale permeabiliteit in de atherosclerotische vaatwand niet verder verhoogt en/of VE-cadherine stabilisering de permeabiliteit kan verlagen, dan zijn VE-cadherine en de endotheel junctions de oorzaak van de lekkende vasa vasorum. Als de resultaten omgekeerd zijn, dan zijn de junctions niet betrokken bij de verhoogde doorlaatbaarheid. In dit geval zal de bijdrage van adhesie-moleculen en de stabiliserende spiercellaag belangrijk zijn. De bijdrage van P-selectine aan lekkage van leukocyten zal bestudeerd worden door P-selectine alleen of samen met VE-cadherine te blokkeren.

Dezelfde interventies zullen ook toegepast worden op muizen met een gezonde, niet-atherosclerotische vaatwand. Deze muizen bevatten nagenoeg geen vasa vasorum en lekkage in deze muizen zal dan veroorzaakt worden door effecten op het endotheel grenzend aan het lumen van de carotis. Deze controle muizen zijn dus nodig om de relatieve bijdrage van luminale endotheel cel junctions t.o.v. vasa vasorum junctions te beoordelen.

6. Wetenschappelijke beoordeling

De PI heeft dit project gelezen en akkoord bevonden.

Proefdier

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Er worden LDLr knock-out muizen (LDLr-KO) met een C57Bl6 achtergrond gebruikt, omdat deze muizen onder invloed van een cholesterolrijk dieet atherosclerose ontwikkelen op een manier die vergelijkbaar is met de menselijke (hypercholesterolemische) situatie. De LDLr-KO dieren zullen worden geleverd vanuit de CPV fok. Aangezien alle dieren aan het einde van het experiment geofferd zullen worden, zijn ze niet beschikbaar voor hergebruik.

7b. Sexe

Om het aantal benodigde dieren zoveel mogelijk te beperken gaat de voorkeur uit naar het gebruik van één geslacht. Atherosclerotische plaques verschillen tussen mannelijke en vrouwelijke LDLr-KO muizen. Het gebruik van twee geslachten zal resulteren in een grotere standaard variatie en dus in een hoger aantal benodigde muizen. Ivm met vergelijkbaarheid met een eerdere studie (DEC 2010-018) zullen mannelijke muizen gebruikt worden.

7c. Aantallen

1. Vroegere detectie en doorlaatbaarheid vasa vasorum van atherosclerotische muizen
5 subgroepen: 12, 16, 20, 30 of 40 weken dieet
2. Stimulatie en stabilisering van VE-cadherine
 - a. LDLR-KO chow
 - i. Controle
 - ii. stimulering VE-cadherine
 - iii. stabilisering VE-cadherine
 - iv. P-selectine blokkering
 - v. P-selectin blokkering+stimulering VE-cadherine
 - b. LDLR-KO dieet
 - i. Controle
 - ii. stimulering VE-cadherine
 - iii. stabilisering VE-cadherine
 - iv. P-selectine blokkering
 - v. P-selectine blokkering+stimulering VE-cadherine

Op basis van eerdere studies binnen onze groep weten we dat $\sigma = 0.097$ en $\delta = 0.15203$ uitleesparameter leukocyte transmigratie). Volgens de formule van L. Sachs ($n = 2(z\alpha/2 - z\pi)^2 * (\sigma/\delta)^2$ met (80% betrouwbaarheid): $F(2(z\alpha/2 - z\pi)^2) 0.8 = 15.7$. $n = 15.7 * (\sigma/\delta)^2$ hebben we $n = 15.7 * (0.097/0.15203)^2$ muizen nodig. ($n =$) 6.39 dieren per groep. Met in acht name van 20% uitval (door bv. olifantstanden, huidproblemen, verlies bij verwerken afgenomen materiaal) hebben we $6.39/0.8 = 7.98 \sim 8$ dieren per groep nodig.

Voor studie 1 zijn er $5 \times 8 = 40$ dieren nodig. Voor studie 2 zijn er $10 \times 8 = 80$ dieren nodig. Totaal aantal dieren voor deze aanvraag: $40+80 = 120$ dieren.

Dierproef

8. Experiment

Het dier wordt onder anesthesie gebracht om de carotis ter hoogte van de bifurcatie te imagen met behulp van . De procedure hiervoor wordt gevolgd zoals eerder ook beschreven in experimenten 2008-152, 2010-006. Hieronder in het kort de gevolgde procedure (zie ook SOP):

- Subcutane toediening van chirurgische anesthesie voor een in vivo multifoton onderzoek van maximaal drie uur: ketamine (100mg/kg) + xylazine (10mg/kg) (er wordt overleg gepleegd met de proefdierdeskundige over verfijning)
- De twee-foton ruimte is niet geschikt voor isofluraan als anesthesie, daar er geen afzuiging is. Vandaar dat gekozen is voor injectieanesthesie.
- Injectie van de dieren met de betreffende liganden ten behoeve van interventie en imaging. Injectie gebeurt via de vena femoralis (zie SOP Far-01-M), zoals ook toegepast in experiment 2008-152, of alternatief via de staartvene. In alle gevallen betreft het één injectie waarbij een of meerdere liganden gelijktijdig worden geïnjecteerd. Na injectie wordt 30 minuten gewacht tot het niet-gebonden ligand is geklaard uit het bloed alvorens de MPLSM-meting begint. In deze tussenliggende periode wordt de carotis vrijgeprepareerd.
- Fixatie van het dier in rugligging en vrijprepareren van de carotis (cfr. experiment 2008-152, 2010-006) en in vivo imaging.
- Na afloop van het experiment zullen de dieren geëuthanaseerd worden middels een overdosis pentobarbital (1:10 verdund in NaCl, 150 mg/kg ($\pm 200 \mu\text{l}$) i.p.

De totale tijd van de gehele procedure bedraagt ca. 3-3½ uur. Imaging zal eenzijdig worden uitgevoerd. De andere zijde zal gebruikt worden voor histologische analyse.

9. Experimentele condities

9a. Anesthesie

MLPSM

Subcutane toediening van chirurgische anesthesie: ketamine (100mg/kg) + xylazine (10mg/kg). (er wordt overleg gepleegd met de proefdierdeskundige over verfijning)

De inductiebolus van de subcutane anesthesie is voldoende voor de eerste 30 minuten. De eerste bolus zal handmatig worden toegediend, waarna onderhoud van de anesthesie zal gebeuren d.m.v. een continu infuus. 15 minuten na de inductiebolus zal een s.c. infuus worden aangelegd (27G naald via een PE10 buis) en zal de anesthesie worden onderhouden met maximaal de helft van de 1^e injectie (inductie) per uur ($\pm 0,15 \text{ ml/h/30 gram}$). Toediening van de anesthesie staat verder beschreven in een SOP (zie verder). De ogen zullen behandeld worden met oogzalf, om uitdroging tegen te gaan.

Opoffering

Dieren zullen opgeofferd worden middels overdosis pentobarbital (1:10 verdund in NaCl, 150 mg/kg (ca. 200 μl)) i.p.; vervolgens zal bloed worden afgenomen nemen.

9b. Pijnbestrijding

Daar de dieren chirurgische anesthesie krijgen is er reeds een combinatie van anesthesie en analgesie aan het dier gegeven. Bij voorgaande experimenten (2008-152) is gebleken dat de gebruikte anesthesie/analgesie voldoende is.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

- Euthanasie middels overdosis pentobarbital (1:10 verdund in NaCl, 150 mg/kg (ca. 200 μl)) i.p.
- Er worden geen complicaties verwacht. Echter, de dieren zullen voortijdig worden gedood bij:
 - Ziektes of condities welke ernstig ongerief indiceren
 - Snelle of gegeneraliseerde afname in gewicht (meer dan 10%) en zelfverzorging en abnormale verschijning over een lange periode
 - Bewijs voor microbiële infecties of andere ziektes die kunnen interfereren met het experimentele

protocol of een van voorgenoemde punten veroorzaken

- o Ernstige complicaties gedurende het in vivo imageren, bijv. ernstige bloedingen

Zorg

10a. Ongerief

Afhankelijk van groep. Overzicht van verschillende handelingen:

Tijdstip	Handeling	Duur	Frequentie	Ongerief
Wk 0-40	Dieet of chow	40wk	dagelijks	01
Wk40	Chirurgische anesthesie voor imaging; Canulatie v. femoralis; Injectie probes	5 min 20min 5 min	1x	03
	Operatie er imaging	2-3 uur	1x	03
	Opofferen na imaging d.m.v. overdosis pentobarbital	5 min	1x	01
TOTAAL				03

- Toestand na het einde van de proef: dood

10b. Welzijnsevaluatie

Eerdere experimenten door onze afdeling hebben aangetoond dat injectie met de liganden niet-toxisch is voor muizen, noch dat er hoge mate van ongerief optreedt. Ook voor in het algemeen geldt dat er slechts uitermate geringe weefselschade optreedt, zeker in vergelijking met bijvoorbeeld confocale microscopie. In andere proeven met op onze afdeling zijn geen welzijnsproblemen opgetreden. Uit voorafgaande blijkt dat de ongeriefinschatting voor de procedure, 03 (matig), juist is. Totale (maximale) ongerief voor de combinatie van verschillende technieken is 03.

11. Verzorging en huisvesting

De dieren worden gehuisvest bij het CPV-UM onder de daar geldende condities en normen (groepshuisvesting). De muizen hebben ad libitum toegang tot voer en drinken. De dieren voor groep 1 en 3 zullen gedurende het experiment een western type dieet krijgen met 0,25% cholesterol en 15% cacaoboter, waarna de dieren voor de diverse onderzoeken ingezet zullen worden en uiteindelijk zullen worden geofferd. De dieren in groep 2 zullen een normaal dieet krijgen.

De dagelijkse verzorging wordt toevertrouwd aan het personeel van het CPV. De verantwoordelijke onderzoeker (VO) (en/of diens vervanger (VVO) dragen zorg voor de controle op de dieren in de proef in overleg met de medewerkers van het CPV. De toediening van de injectie met liganden en zal worden uitgevoerd bij de afdeling UM). Bij calamiteiten wordt Art. 14 en vervolgens VO of VVO gewaarschuwd.

12. Deskundigheid

Alle betrokkenen zijn bevoegd en bekwaam voor de beschreven procedures.

13. Standard Operation Procedures (SOP)

Dieet samenstelling:

15% cacao boter, 1% maïs olie, 0.25% cholesterol, 40.5% sucrose, 10% maïs zetmeel, 5.95% cellulose (Special Diets Services).

Procedure voor operatie voor in vivo MPLSM imaging

Anesthesie / Injectie met liganden

- Het dier krijgt ketamine (100mg/kg) + xylazine (10mg/kg), s.c. ingespoten als anesthesie.
- Injectie van liganden (200 µl behulp van een 27G naald via een PE10 buis) vindt plaats via de vena femoralis (zie SOP Far-01-M). Aangezien het een terminaal experiment betreft, zal de canule niet doorgevoerd worden tot aan de nek, noch zal de muis bijkomen na afloop van de canulatie (in tegenstelling tot hetgeen vermeld in SOP Far-01-M).

Operatie en in vivo imaging

- De muis wordt in rugligging gefixeerd en op 36.5°C gehouden via een gethermostreerde verwarmingsplaat waarbij de temperatuur wordt bijgestuurd via een rectaal ingebrachte thermosensor.
- Keel regio wordt geschoren, gevolgd door incisie, waarna de carotiden van de muis voorzichtig worden vrijgeprepareerd. Na verplaatsing van het dier van de operatietafel naar het visualisatieplatform, kan

imaging beginnen.

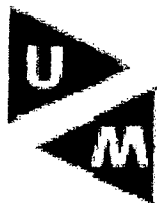
- Imaging van de carotide ter hoogte van de atherosclerotische plaque. Procedure duurt ca. 45 minuten. Hierna zal dezelfde procedure worden gevolgd voor de andere carotide. Totale duur van het experiment bedraagt maximaal 3 uur.

Euthanasie

- Euthanasie vindt plaats na afloop van imaging door middel van een overdosis pentobarbital (1:10 verdund in NaCl, 150 mg/kg (ca. 200 µl)) i.p.

Relevante literatuur

1. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Finn AV, Gold HK, Tulenko TN, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(10):2054-61.
2. Sluimer JC, Kolodgie FD, Bijnens AP, Maxfield K, Pacheco E, Kutys B, et al. Thin-walled microvessels in human coronary atherosclerotic plaques show incomplete endothelial junctions relevance of compromised structural integrity for intraplaque microvascular leakage. *J Am Coll Cardiol.* 2009 Apr 28;53(17):1517-27.
3. Eriksson EE. Intravital microscopy on atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice establishes microvessels as major entry pathways for leukocytes to advanced lesions. *Circulation.* 2011 Nov 8;124(19):2129-38.
4. Gotsch U, Borges E, Bosse R, Boggemeyer E, Simon M, Mossmann H, et al. VE-cadherine antibody accelerates neutrophil recruitment in vivo. *J Cell Sci.* 1997 Mar;110 (Pt 5):583-8.
5. Heupel WM, Efthymiadis A, Schlegel N, Muller T, Baumer Y, Baumgartner W, et al. Endothelial barrier stabilization by a cyclic tandem peptide targeting VE-cadherine transinteraction in vitro and in vivo. *J Cell Sci.* 2009 May 15;122(Pt 10):1616-25.



University Maastricht

Faculty of Health, Medicine
and Life Sciences

Dierexperimenten Commissie

DEC

Aan:

p/a Secretariaat DEC-UM
Postbus 616
NL-6200 MD Maastricht
Telefoon: 043-

Uw referentie:

Onze referentie :

Maastricht, 19-12-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: "*Lekkende vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand*", is op de DEC vergadering van 16 december 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- 1) De DEC verzoekt het geslacht op het voorblad en bij punt 7b in overeenstemming te brengen.
- 2) Bij punt 4 wenst de DEC recentere referentie ter onderbouwing van het aantal mensen dat hieraan overlijdt.
- 3) Punt 9a- De DEC verzoekt, in overleg met de proefdierdeskundige, of de anesthesie mogelijk niet verfijnd kan worden in de toekomst.

Gelieve eventuele vragen te beantwoorden in **een brief en indien noodzakelijk Uw project aan te passen en duidelijk de aanpassingen grijs te markeren.**

Uw project staat bij de DEC geregistreerd onder nummer **2011-161**, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

De DEC-UM wenst u en uw familie fijne feestdagen en een voorspoedig en vooral gezond 2012!

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM

Aan: Dier Ethische Commissie
Betreft: Aanpassing opzet DEC 2011-161

Maastricht, 5 januari 2012

Geachte DEC,

Bij deze licht ik uw vragen en opmerkingen toe, betreffende projectaanvraag:
"Lekkende vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand".

- Het geslacht op het voorblad en bij punt 7b zijn nu in overeenstemming.
- Bij punt 4 is de meest recente referentie van de WHO toegevoegd. Er zijn
- Punt 9a: Verfijning in de toekomst is zeker belangrijk voor deze techniek. Na de eerste screening van het protocol door de proefdierdeskundige en haar verzoek tot verfijning, heb ik wetenschappelijke literatuur opgezocht om vast te stellen welke combinatie anesthetica het meest verfijnd is. Helaas zijn de artikelen niet eenduidig over de meest verfijnde anesthesie en ondersteunen deze niet de combinatie voorgesteld door de proefdierdeskundige. Ik vertrouw erop dat mijn verzoek tot overleg met de proefdierdeskundige spoedig zal leiden tot een verfijning van de methode.
- Alle aanpassingen zijn in grijs gemarkeerd.

Voor eventuele vragen ben ik beschikbaar op onderstaand telefoonnummer.

Met vriendelijke groet,

Aan:

*Ons kenmerk**Doorkiesnummer*
043-*Maastricht*
10-01-2012**Project:** *Lekkende vasa vasorum in de atherosclerotische vaatwand.*DEC-UM
Voorzitter DEC-UM**Verantwoordelijk onderzoeker (VO):** J

p/a secretariaat DEC-UM

Namens de Vergunninghouder van de DEC-UM, delen wij u mede dat voornoemd project aan de ethische toetsingscriteria voor proefdiergebruik voldoet.

Secretariaat DEC-UM
T (043)

De DEC maakt geen bezwaar tegen uitvoering van dit project zoals aangevraagd en geeft een **positief advies**.

Bezoekadres

Projectnummer: 2011-161
Diersoort: muis
Aantal dieren: 120
Einddatum: 10-01-2016

Postadres
Postbus 616
6200 MD Maastricht

Uw project staat bij de DEC en CPV geregistreerd onder bovenstaand nummer. Gelieve dieren, die voor dit project bestemd zijn, ook onder dit nummer aan te vragen.

Voorzitter DEC-UM

Vicevoorzitter DEC-UM